



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

**DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E MONITORIZAÇÃO DA
DIABETES MELLITUS**

Trabalho submetido por
Vanessa Margarida da Luz Cordeiro
para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

janeiro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

**DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E MONITORIZAÇÃO DA
DIABETES MELLITUS**

Trabalho submetido por
Vanessa Margarida da Luz Cordeiro
para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

Trabalho orientado por
Dr. José Feliz

e coorientado por
Doutora Manuela Caniça

janeiro de 2019

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Professor José Feliz pelo tempo e dedicação disponibilizados para me auxiliar na realização desta Monografia, assim como à Professora Manuela Caniça, minha co-orientadora, pois foram muito importantes para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Às novas amigas que nasceram no decorrer deste Mestrado em especial à Marta Nicolau pela amizade, pelos momentos partilhados e pelo apoio.

Aos meus pais, em especial à minha mãe que sempre me apoiou e acreditou em mim. Sem o seu apoio e incentivo não teria sido possível terminar este mestrado. Aos meus irmãos, sogra e cunhada que sempre me ajudaram nesta jornada.

Ao meu marido Pedro, companheiro na viagem da vida, por todo o amor, paciência e incentivo que sempre demonstra. Os meus filhos Manuel e João, espero compensar-vos por todo o tempo em que não estive presente, por todas as brincadeiras em que não participei, por todos os momentos em que a mãe foram os avós, tios e o pai.

Resumo

A diabetes Mellitus (DM) é uma pandemia global devido a alteração do estilo de vida das populações, nomeadamente à obesidade e à falta de atividade física. Acresce ainda para o efeito, o aumento da esperança de vida, registado nas ultimas décadas. A diabetes Mellitus é uma doença crónica com alteração do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lípidos, caracterizada por hiperglicemia crónica, devido a defeito na secreção de insulina, na ação da insulina ou em ambos.

O laboratório de Análises Clínicas desempenha um papel importante no diagnóstico e monitorização da DM. O diagnóstico é efetuado com base nos níveis de glicose plasmática em jejum, glicemia ocasional, pela prova de tolerância à glicose oral ou pela determinação da hemoglobina glicada, mais recentemente.

A monitorização da Diabetes tem como objetivo a prevenção sobretudo das complicações microvasculares provocadas por níveis hiperglicémicos crónicos no sangue. Os parâmetros mais utilizados na monitorização da DM, são a glicemia, a Hemoglobina glicada A1c (HbA1c), a microalbuminúria e corpos cetónicos. Nos últimos anos têm surgido outros parâmetros como a albumina glicada e o 1,5 androglucitol para a monitorização da DM.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus, Diagnóstico, Monitorização Hemoglobina glicada.

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a global pandemic caused by changes in people's way of life, namely obesity and lack of physical activity. Furthermore, the increase in life expectancy witnessed over the past decades has also contributed to the disease outbreak. DM is a chronic disease, which changes carbohydrates, proteins and lipids metabolisms, characterized by chronic hyperglycemia, due to defective insulin secretion, insulin action or both.

The Clinical Analysis Laboratory has an important role in DM diagnosis and monitoring. The diagnosis is based on the plasma glucose levels in fasting, occasional glucose, oral glucose tolerance test or, more recently, the determination of glycated hemoglobin.

The goal of DM monitoring is to prevent mostly microvascular complications motivated by blood chronic hyperglycemic levels. The most commonly used parameters for DM monitoring are glycemia, glycated hemoglobin A1c (HbA1c), microalbuminuria and ketone bodies. Over recent years, other parameters such as glycated albumin and 1,5 anhydroglucitol have appeared to monitor DM.

Key-Word: Diabetes Mellitus, Diagnosis, Monitoring, Glycated hemoglobin.

Índice

1	Introdução.....	11
2	Classificação da diabetes.....	13
2.1	Diabetes tipo 1	13
2.1.1	Diabetes tipo 1 autoimune	13
2.1.2	Diabetes tipo 1 idiopática	14
2.2	Diabetes tipo 2	15
2.3	Diabetes gestacional	16
2.4	Outros tipos específicos de diabetes	16
2.4.1	Defeitos genéticos da célula β	16
2.4.2	Defeitos genéticos na ação da insulina	17
2.4.3	Doenças do pâncreas exócrino	17
2.4.4	Endocrinopatias diversas	17
2.4.5	Diabetes induzida por químicos ou fármacos.....	17
2.4.6	Infeções.....	17
2.5	Nova proposta de Classificação da Diabetes Mellitus.....	17
3	Epidemiologia da Diabetes Mellitus	21
4	Complicações da diabetes	23
5	Terapêutica	27
5.1	Insulina.....	27
5.2	Antidiabéticos orais	28
6	Diagnóstico.....	31
6.1	Parâmetros	32
6.1.1	Glicemia	32
6.1.2	Prova de Tolerância à glicose oral.....	34
6.1.3	Hemoglobina glicada A1C (HbA1c)	34
6.2	Diagnóstico etiológico da diabetes Mellitus primária	38
6.2.1	Insulina	38
6.2.2	Péptido C	39
6.2.3	Anticorpos anti célula β	40
7	Monitorização.....	43
7.1	Glicemia.....	43

7.2	HbA1c	43
7.3	Albuminúria	46
7.4	Corpos cetónicos.....	47
7.5	Frutosamina	48
7.6	Albumina Glicada	48
7.7	1,5 androglucitol	50
8	Conclusão.....	51
9	Bibliografia.....	53

Índice de figuras

Figura 1- Prevalência de Diabetes Mellitus por países (IDF, 2017).	21
Figura 2 – Prevalência da Diabetes por regiões em Portugal. (Moura, 2015).....	22
Figura 3 - As complicações da Diabetes (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).....	23
Figura 4 - Consumo em ambulatório de insulinas e antidiabéticos não insulínicos, vendidos em Portugal continental (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).....	27
Figura 5 – Reação de glicação da Hemoglobina A. fonte (Sherwani, Khan, Ekhzaimy, Massod&Sakharkar, 2016)	35
Figura 6 - Relação entre a HbA1c – DCCT (NGSP) e HbA1c – IFCC. Fonte (Guimarães, Bastos&Carvalho, 2006).	37
Figura 7 - Risco de complicações microvasculares e os valores de HbA1c. (Adaptado de Neto et. al., 2009)	44
Figura 8 - O impacto da HbA1c em diversos parâmetros. (Sherwani&Khan, 2016).....	45

Índice de tabelas

Tabela 1 – Proposta de Classificação da Diabetes Mellitus.	19
Tabela 2 - Parâmetros e valores de diagnóstico de diabetes Mellitus.	31
Tabela 3 – Parâmetros e níveis de diagnóstico da diabetes Gestacional.	32
Tabela 4 - adaptada da : Fatores que podem afetar a determinação da HbA1c.....	36
Tabela 5 - Métodos para a avaliação da albumina na urina. (DGS, 2011e)	46

Lista de Abreviaturas

1,5-AG	1,5 Anidroglucitol
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
ADO	Antidiabéticos Orais
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ATP	Trifosfato de adenosina
DGS	Direção Geral de Saúde
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DPP-4	Inibidores da dipeptidil-peptidase 4
DCCT	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
AG	Albumina glicada
GADA	Anticorpo descarboxilase do ácido glutâmico
GAD	Descarboxilase do ácido glutâmico
HbA1c	Hemoglobina A1c ou hemoglobina glicada
HbS	Hemoglobina S
HbC	Hemoglobina C
HbS	Hemoglobina S
HbE	Hemoglobina E
HbF	Hemoglobina F
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HLA	Antigénio Leucocitário Humano
HOMA2-B	Modelo homeostático e função Célula β
HOMA2-IR	Modelo homeostático de insulino resistência
HPLC	Cromatografia líquida de alta preformasse
IAA	Anticorpo anti insulina
ICA	Anticorpo anti célula Ilhéu
IDF	<i>Internation Diabetes Federation</i>
IFCC	<i>International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>

IMC	Índice de massa corporal
LADA	<i>Latent Autoimmune Diabetes in Adults</i>
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MODY	Diabetes do adulto iniciada na juventude
NAD	Nicotinamida adenine dinucleotídeo
NADH	Dinucleótido de adenina nicorinamida
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NGSP	<i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PTGO	Prova de Tolerância à Glicose Oral
SGLT2	Cotransportador de Sódio e Glucose
SUR-1	<i>Sulfonylurea receptor type 1</i>
ZnT8A	Transportador do zinco

1 Introdução

A diabetes Mellitus (DM) pertence a um grupo de doenças metabólicas com múltiplas etiologias caracterizadas por uma hiperglicemia crônica, devido a defeitos na secreção ou na ação da insulina ou em ambas (Diabetes care, 2014).

A insulina é a hormona essencial para o metabolismo dos hidratos de carbono, esta é produzida nas células β do pâncreas, e é a chave para o transporte da glicose para o interior das células para que possa ser convertida em energia essencial às mesmas. A falta de insulina ou a inabilidade das células em responderem à insulina leva a que os níveis de glicose no sangue aumentem levando à hiperglicemia (International Diabetes Federation, 2017).

Vários processos patogénicos estão envolvidos no desenvolvimento da DM, desde a destruição autoimune das células β pancreáticas que resulta na deficiência de insulina, até anomalias que resultam na resistência à insulina (Diabetes care, 2014).

A patologia da DM tem sido considerada, segundo dados recentes, como uma epidemia global. A alteração do estilo de vida das populações, com o aumento da esperança de vida, da obesidade e a falta de atividade física, têm levado a que, nas últimas décadas, tenha havido um aumento desta patologia a nível mundial. (Falcão et al., 2008).

A DM é classificada em 4 categorias diferentes, a diabetes Mellitus tipo 1, diabetes Mellitus tipo 2, diabetes gestacional e outros tipos de diabetes. Entre 90 a 95 por cento dos diabéticos têm Diabetes Mellitus tipo 2. A diabetes Mellitus do tipo 1 caracteriza-se pela deficiência absoluta de insulina, resultante da destruição autoimune das células β do pâncreas, a Diabetes Mellitus tipo 2 ocorre quando o pâncreas não produz insulina suficiente ou quando o organismo não consegue utilizar, de forma eficaz, a insulina produzida (Diabetes Care, 2014).

O diagnóstico da DM baseia-se fundamentalmente nas alterações da glicose plasmática ou pela prova de tolerância à glicose oral ou pela determinação da hemoglobina glicada. O diagnóstico correto e precoce é extremamente importante, porque permite que sejam adotadas alterações do estilo de vida e medidas farmacológicas que podem retardar o aparecimento das complicações crónicas da doença (Diabetes Care, 2014).

A DM é uma doença crónica, que tem como resultado elevados níveis de glicose no sangue que provocam, a longo prazo, danos irreversíveis nos órgãos e tecidos do organismo, tendo como consequência, diversas complicações graves para a saúde e consequentemente uma morte prematura. Assim, a monitorização dos doentes com esta patologia é de extrema importância para prevenir o aparecimento dessas complicações. O nível da hemoglobina glicada é o parâmetro recomendado para a monitorização dos níveis de glicémia dos doentes diabéticos (Diabetes care, 2017b; Falcão, 2008)

Em quase todos os países desenvolvidos, a DM encontra-se entre a principal causa de cegueira, de insuficiência renal crónica, de amputações dos membros inferiores e desenvolvimento de doenças cardiovasculares. (Falcão et al., 2008).

Esta monografia pretende ser uma revisão bibliográfica da literatura científica acerca do diagnóstico laboratorial e monitorização da Diabetes Mellitus. Primeiramente é feita uma descrição da patologia DM enquanto doença endócrina, a sua definição e classificação, a epidemiologia da doença, as complicações associadas a esta patologia e a terapêutica farmacológica. Numa segunda parte são descritos os parâmetros laboratoriais para o diagnóstico e monitorização da Diabetes Mellitus.

2 Classificação da diabetes

A Classificação da DM atual foi estabelecida pela ADA em 1997 e OMS em 2006, estabelecendo a existência de quatro tipos clínicos, etiologicamente distintos (Direção Geral da Saúde, 2011a; Paiva, C, 2001):

- a) Diabetes tipo 1
- b) Diabetes tipo 2
- c) Diabetes gestacional
- d) Outros tipos específicos de diabetes

2.1 Diabetes tipo 1

A diabetes tipo 1 resulta da destruição das células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, com insulinopenia absoluta, passando assim a terapêutica com insulina a ser indispensável para assegurar a sobrevivência. A destruição das células β dá-se na sua grande maioria por um mecanismo autoimune, denominando-se este como diabetes tipo 1 autoimune; noutros casos em que não se consegue documentar a existência do processo imunológico, denomina-se diabetes tipo 1 idiopática (Direção Geral da Saúde, 2011a).

2.1.1 Diabetes tipo 1 autoimune

Esta forma de diabetes corresponde a apenas 5-10% das pessoas com diabetes. Este tipo de diabetes engloba os termos de diabetes dependente de insulina ou diabetes juvenil. Resulta da destruição autoimune das células β do pâncreas (Diabetes Care, 2014).

Os marcadores autoimunes da destruição das células β , incluem:

- Auto anticorpos das células dos ilhéus (ICA);
- Auto anticorpos de insulina (IAA);
- Auto anticorpos de descarboxilase do ácido glutâmico (GADA);
- Auto anticorpos de tirosina fosfatases IA-2 e IA-2 β (Diabetes Care, 2014).

Esta patologia está fortemente associada ao antígeno leucocitário humano (HLA), ligado aos genes *DQA* e *DQB*, que são influenciados pelos genes *DRB* (Diabetes Care, 2014).

Nesta forma de diabetes, a relação da destruição de células β é bastante variável, podendo ser rápida em alguns indivíduos e lenta noutros. A forma de progressão rápida é, frequentemente observada em crianças e adolescentes mas também pode ocorrer em adultos, mas a forma de progressão lenta ocorre em adultos e a este tipo de diabetes é chamada de diabetes latente autoimune do adulto (LADA). Alguns doentes, em particular nas crianças e adolescentes, apresentam como primeira manifestação da doença a cetoacidose. Outros têm pouca hiperglicemia em jejum que pode rapidamente mudar para hipoglicémia grave e/ou cetoacidose na presença de infeção ou outros como o stress (Diabetes Care, 2014).

A destruição autoimune de células β advém de múltiplas predisposições genéticas mas também de fatores ambientais apesar de pouco definidos (Diabetes Care, 2014)

Estes doentes são também propensos a outras desordens autoimunes tais como: doença de Graves, Tiroidite de Hashimoto, vitiligo, hepatite autoimune, anemia Perniciosa (Diabetes Care, 2014; Sacks et al., 2011).

A LADA é a forma mais prevalente de diabetes autoimunes no adulto. Os doentes com LADA são diagnosticados com idade superior a 30 anos, verificando-se a presença de sintomas agudos, presença de marcadores autoimunes da destruição da célula β , índice de massa corporal inferior a 25 kg/m². Geneticamente estes doentes partilham características da DM1 e DM2, e progressão para insulinoterapia (Alves et al., 2016). A progressão lenta da patologia deve-se ao facto de a célula β manter função suficiente para prevenir a cetoacidose por pelo menos 12 anos; mas eventualmente tornam-se dependentes de insulina e com risco de cetoacidose. Neste estado avançado da doença, existe pouco ou nenhuma secreção de insulina, que é manifestada por pouco ou nenhum nível de peptídeo C (Diabetes Care, 2014; Levy, 2018).

2.1.2 Diabetes tipo 1 idiopática

A etiologia da diabetes tipo 1 idiopática é desconhecida. Nesta patologia, alguns destes pacientes têm insulinopenia e propensão para cetoacidose mas não têm evidência

de ação autoimune. Só uma pequena parte dos doentes com diabetes tipo 1 encaixam nesta categoria, e na sua maioria têm ancestrais africanos e asiáticos (Diabetes Care, 2014).

2.2 Diabetes tipo 2

A diabetes Mellitus tipo 2 é o tipo de diabetes mais comum, correspondendo a 90-95% de todos os casos de diabetes, muitas vezes associado à obesidade principalmente abdominal, à hipertensão arterial e à dislipidemia, este tipo de diabetes é caracterizado por distúrbios na ação e secreção da insulina, resultando uma insulinopenia relativa, com maior ou menor grau de insulinoresistência (Direção Geral da Saúde, 2011a).

A maioria dos doentes com este tipo de diabetes são obesos, uma vez que a obesidade em si causa algum grau de resistência à insulina, ou não são obesos pelos critérios de obesidade, mas têm um aumento da percentagem de gordura na zona abdominal (Diabetes Care, 2014).

Este tipo de diabetes frequentemente passa despercebida por muitos anos porque a hiperglicemia se desenvolve gradualmente e não de forma drástica de modo que o doente não apresenta os sintomas clássicos de diabetes. Mesmo sem o diagnóstico estes pacientes têm riscos elevados de terem complicações micro e macrovasculares (Diabetes care, 2014).

Existem doentes com DM2 que têm os níveis de insulina normais ou até elevados, mas os níveis de glucose no sangue elevados. Estes níveis de insulina normais mostram que as células β dos ilhéus de Langerhans estão normais mas a insulina que segregam tem algum defeito ou então existe resistência à insulina. A resistência à insulina pode melhorar com a redução do peso e tratamento farmacológico para diabetes (Diabetes Care, 2014).

O risco de desenvolver diabetes tipo 2 aumenta com a idade, a obesidade e com a falta de exercício físico. A DM2 está fortemente associada à predisposição genética como na DM1, mas não está ainda totalmente compreendido (Diabetes Care, 2014).

2.3 Diabetes gestacional

A diabetes Mellitus gestacional define-se como qualquer grau de anomalia no metabolismo da glicose pela primeira vez durante a gravidez (Direção Geral da Saúde, 2011b; Diabetes Care, 2017b). Mas esta definição é limitada uma vez que se tem verificado o aumento de obesidade e DM2, em mulheres em idade fértil, sem diagnóstico antes da gravidez tem vindo a aumentar. As recomendações recentes da OMS e DGS são que as grávidas com glicemia plasmática em jejum igual ou superior a 126 mg/dl (7 mmol/L), ou glicemia plasmática ocasional superior a 200 mg/dl (11,1 mmol/l), ou HbA1c igual ou superior a 6,5%, sejam diagnosticadas com diabetes prévia (Direção Geral da Saúde, 2011b; Diabetes Care, 2017b).

2.4 Outros tipos específicos de diabetes

2.4.1 Defeitos genéticos da célula β

O diagnóstico ocorre em idade jovem, geralmente antes dos 25 anos. Esta patologia é caracterizada por uma deficiência na secreção da insulina e na sua ação e tem transmissão autossómica dominante, este tipo de diabetes designa-se por diabetes do adulto iniciada na juventude (MODY) (Diabetes Care, 2017b). São conhecidos 13 genes associados à MODY em diferentes cromossomas, o tipo mais comum reportado é o GCK-MODY (MODY2), HNF1A-MODY (MODY3) e o HNF4A-MODY (MODY1) (Diabetes Care, 2017b).

O MODY2 resulta da mutação no gene que codifica a glucoquinase (enzima que fosforila a glucose na célula β) levando a uma parcial deficiência na secreção da insulina. Os restantes tipos são causados por mutações em genes que codificam a transcrição de outros fatores que regulam a expressão de genes da célula β (Sacks, 2017). Apesar de a PTGO, anticorpos anti célula β e o péptido-C serem úteis para diferenciar MODY do tipo 1 ou 2, para o diagnóstico deste tipo de diabetes é necessário a realização de testes genéticos (Sacks, 2017).

2.4.2 Defeitos genéticos na ação da insulina

Neste tipo de diabetes há mutações genéticas no recetor da insulina. As células não conseguem receber a glicose, causando hiperinsulinemia e hiperglicemia ligeira podendo levar à diabetes sintomática (Diabetes Care, 2017b).

2.4.3 Doenças do pâncreas exócrino

Doenças adquiridas que provocam a diabetes, tais como: pancreatite, neoplasia, fibrose quística, infeções, trauma, pancreatectomia (Diabetes Care, 2017b).

2.4.4 Endocrinopatias diversas

Doenças associadas à secreção excessiva de hormonas, tais como a hormona de crescimento, cortisol, glucagon e adrenalina. Estas hormonas antagonizam a ação da insulina, podendo levar ao aparecimento da diabetes (Diabetes Care, 2017b).

2.4.5 Diabetes induzida por químicos ou fármacos

Muitos fármacos podem comprometer a ação da insulina tais como certos fármacos hormonais, e outros fármacos com capacidade de diminuir a secreção da insulina. Exemplo desse fármaco são: os glicocorticóides, ácido nicotínico, tiazidas, entre outros (Diabetes Care, 2014).

2.4.6 Infeções

Alguns vírus têm vindo a ser associados à destruição das células β tais como rubéola congénita, citomegalovírus, adenovírus e coxsackievirus b (Diabetes Care, 2014).

2.5 Nova proposta de Classificação da Diabetes Mellitus

Num estudo recente, realizado nos países Escandinavos foi proposta uma nova classificação da diabetes mellitus. Segundo os autores do estudo, a nova classificação permite organizar a DM em cinco subtipos de diabetes, Com esta classificação têm a

intenção de definir as diferentes abordagens terapêuticas, bem como identificação dos doentes com risco mais elevado de desenvolver complicações (Ahlqvist, *et al.*, 2018).

Segundo os autores o modelo atual de classificação da Diabetes mellitus é redutora, uma vez que esta é uma doença heterogénia tanto nos sintomas clínicos como na progressão, a ter como critério de diagnóstico/classificação apenas o metabolismo da glucose. Nesse sentido, foram utilizados no estudo seis variáveis para a classificação: a idade do diagnóstico, índice de massa corporal (IMC), HbA1c, anticorpos glutamato descarboxilase, modelo homeostático de insulina resistência (HOMA2-IR) e função da célula β (HOMA2-B), através do doseamento do péptido C, e estudo genético (Ahlqvist, *et al.*, 2018).

Os resultados dos seis parâmetros foram confrontados com dados prospetivos da evolução clínica, incluindo desenvolvimento de complicações e medicamentos utilizados, risco de complicações da diabetes e associações genéticas (Ahlqvist, *et al.*, 2018). Assim, da análise estatística resultou a identificação de cinco subtipos de DM que se encontram na tabela 1.

Na análise dos resultados foi observado que os indivíduos do grupo 3 (mais resistentes à insulina) têm um risco significativamente maior de sofrer de nefropatia diabética do que os indivíduos nos grupos 4 e 5, indicando assim que o risco de doença renal está associada à resistência à insulina. Por outro lado, a retinopatia diabética é mais comum nos doentes do subtipo 2 do que nos restantes subtipos (Ahlqvist, *et al.*, 2018).

Tabela 1- Proposta de Classificação da Diabetes Mellitus, adaptado (Ahlqvist, et al., 2018).

Subtipos	N %	Características	Nome
1	577 (6,4)	<ul style="list-style-type: none"> - Início da doença em idade jovem; - Engloba a DM tipo 1 e LADA; - IMC baixo; - Fraco controlo metabólico; - Deficiência de insulina; - Presença de anticorpos anti glutamato descarboxilase. 	Diabetes autoimune grave
2	1575 (17,5)	<ul style="list-style-type: none"> - Semelhante ao subtipo 1; - Ausência de anti glutamato descarboxilase; - HbA1c alta; - Maior incidência de retinopatia diabética. 	Diabetes insulino-deficiente grave
3	1373 (15,3)	<ul style="list-style-type: none"> - Resistência à insulina; -IMC elevado; - Maior incidência de nefropatia diabética. 	Diabetes insulino-resistente grave
4	1942 (21,6)	<ul style="list-style-type: none"> - Obesidade; - Idade jovem; - Não há resistência à insulina. 	Diabetes leve relacionado com obesidade
5	3513 (39,1)	<ul style="list-style-type: none"> - Idade avançada; - Poucas alterações metabólicas. 	Diabetes leve relacionado com a idade

A análise genética realizada no estudo mostrou que todos os subtipos são geneticamente distintos. O gene *TCF7L2* associado à DM2 está associado ao subtipo 2, 4 e 5 e não ao subtipo 3. O gene *TM6SF2* geralmente associado à esteatose hepática não alcoólica, está associado ao subtipo 3, sugerindo este subtipo ser caracterizado por síndrome metabólico. No caso do gene *HHEX/IDE* variante do *HLA* (presumível/associado com a DM1) está fortemente associado ao subtipo 1, e não ao subtipo 2 que reflete uma natureza não autossómica (Ahlqvist, et al., 2018). Os autores

referem que são necessários novos estudos genéticos para poder estabelecer melhor as diferenças genéticas entre subtipos (Ahlqvist, *et al.*, 2018).

Este estudo foi realizado na população escandinava, com poucos representantes de outras etnias, não se sabendo a sua aplicabilidade a outras populações/etnias (Ahlqvist, *et. al.*, 2018).

3 Epidemiologia da Diabetes Mellitus

A diabetes Mellitus é dos maiores problemas de saúde do século XXI. A organização mundial de saúde considera a DM como o 3º maior fator de risco de morrer prematura, depois da tensão alta e do tabaco. Estima-se que 415 milhões de pessoas, o que corresponde a 8,8% de adultos dos 20-79 anos, têm diabetes Mellitus. Outras estimativas apontam para que, em 2040 o número seja de 642 milhões de pessoas. O maior aumento têm lugar nos países emergentes (Internation Diabetes Federation, 2015).

Em 2005 estimou-se que em todo o mundo existiam 192 de milhões de pessoas com diabetes que desconheciam que possuíam a doença, acarretando todas as complicações associadas ao não controlo da glicemia. A diabetes foi responsável por 5 milhões de mortes em 2015. O número de pessoas com Diabetes Tipo 2 está a aumentar em todos os países, sendo o tipo com maior prevalência em todo o mundo (Figura 1). Este aumento é consequência de estilos de vida mais sedentários e alimentação desequilibrada, e consequente aumento da obesidade (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

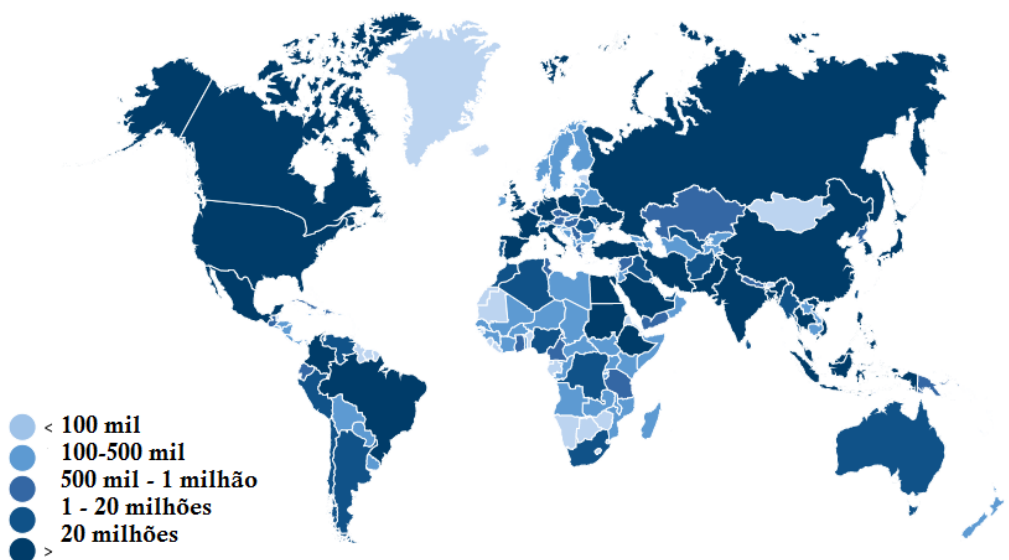


Figura 1- Prevalência de Diabetes Mellitus por países (Internation Diabetes Federation, 2017).

Em Portugal os últimos dados divulgados de 2015 revelam que 13,3% da população portuguesa com idades compreendidas entre os 20 e os 79 anos têm diabetes, dos quais 7,5% têm o diagnóstico estabelecido e 5,8% tem diabetes não diagnosticada. Na mesma publicação é referido que 40,7% da população portuguesa, entre os 20 e os 79

anos, têm diabetes ou hiperglicémia intermédia. (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

Relativamente à diabetes do tipo 1, respeitante aos anos anteriores, manteve-se estável na população portuguesa, com idades compreendidas entre os 0 e os 19 anos (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

A prevalência de diabetes gestacional, em 2015, foi de 7,2% da população parturiente, no Sistema Nacional de Saúde Português. Um em cada 7 nascimentos, foram afetados durante o período de gravidez, por hiperglicémia materna, em 2015 (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

A prevalência da diabetes em indivíduos entre 20 e 79 anos, em 2009, por regiões de Portugal encontra-se representada na figura 2, verificando-se que a população da Região Autónoma dos Açores têm uma prevalência da DM de 14,3%, a maior do país. A menor prevalência da DM no país regista-se na região Centro (Moura, 2015).

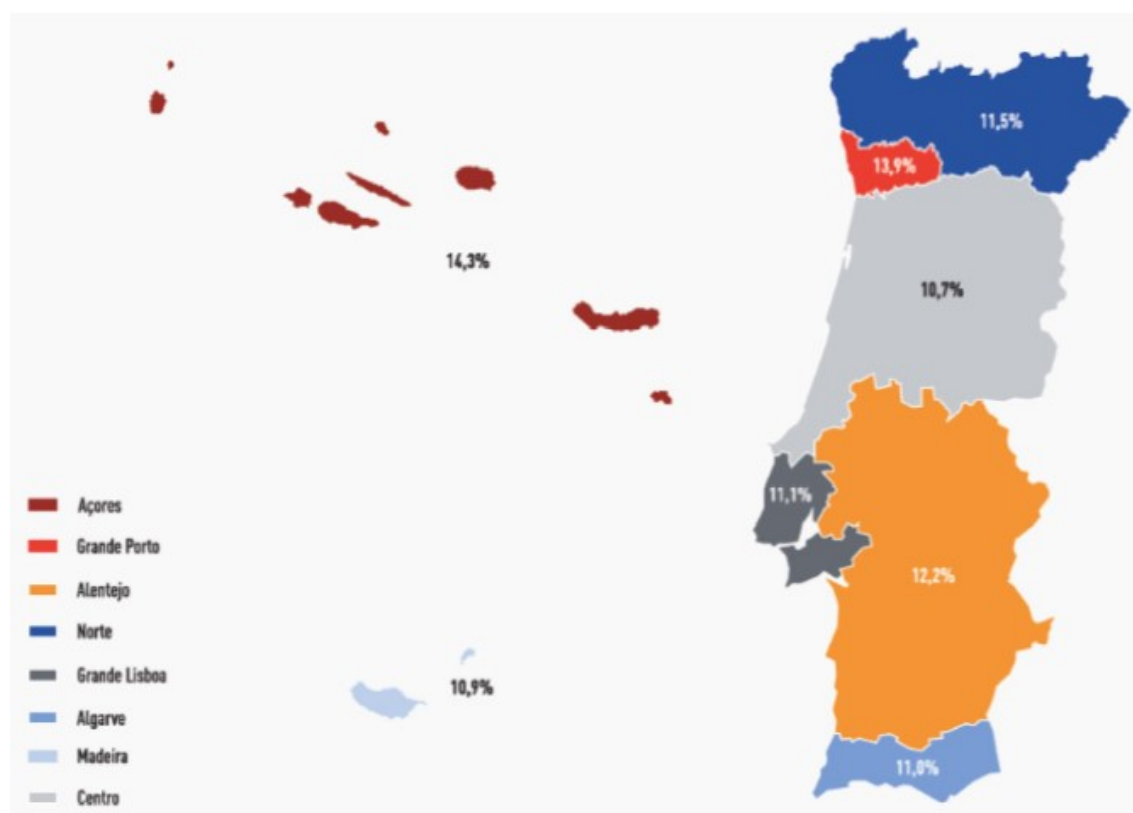


Figura 2 – Prevalência da Diabetes por regiões em Portugal. (Moura, 2015)

4 Complicações da diabetes

A diabetes Mellitus representa um fator de risco para outras patologias que afetam a retina (retinopatia), rins (nefropatia), cérebro e circulação cerebral (doença vascular cerebral), o sistema nervoso periférico (neuropatia) membros inferiores (doença vascular periférica), pé diabético (ulceração e amputação) e coração e a circulação (doença coronária) (Figura 3) (Nathan, Meigs&Singer, 1997; Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

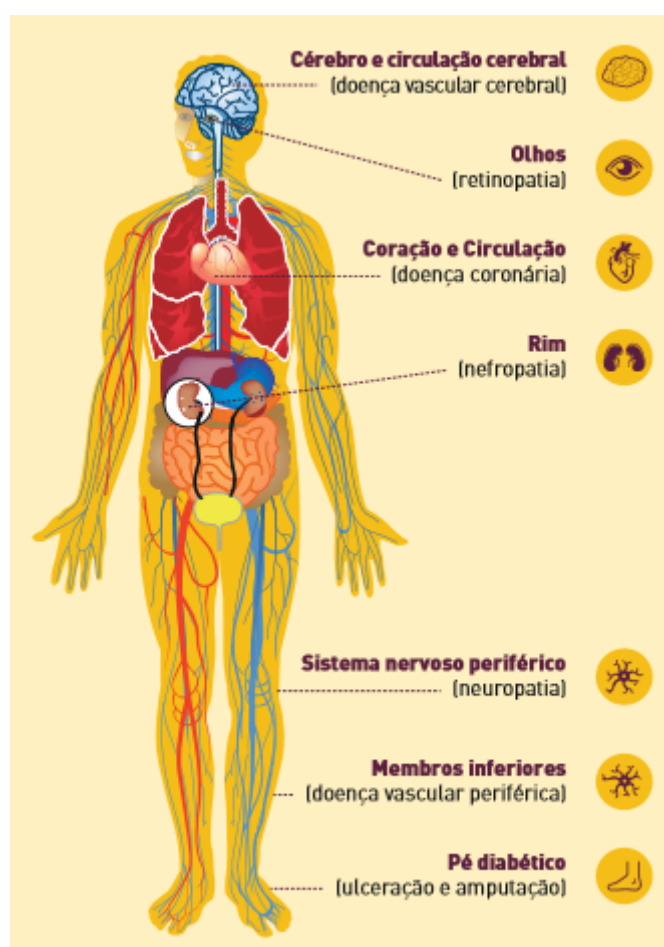


Figura 3 - As complicações da Diabetes (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

As complicações da diabetes Mellitus foram responsáveis em 2015 por 5 milhões de mortes a nível mundial em 2015 (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

As doenças cardiovasculares como doença coronária, doenças cerebrovasculares, e doenças vasculares periféricas ocorrem com maior frequência em diabéticos, sendo a

maior causa de morte dos doentes com diabetes no mundo (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016), uma vez que os altos níveis de glicemia podem tornar a coagulação mais ativa. Os doentes com diabetes Mellitus têm, na sua maioria, associada pressão arterial elevada e níveis de colesterol também elevados, conduzindo a um aumento do risco de doenças cardiovasculares (Internacional Diabetes Federation, 2017).

A retinopatia diabética ocorre devido aos danos causados nos capilares da retina pelos níveis elevados de glucose no sangue, causando perda de visão, que pode levar à cegueira, sendo a principal causa de cegueira evitável na população adulta (20 a 65 anos). A prevenção da retinopatia diabética é feita primeiramente pelo controlo dos níveis normais de glucose no sangue e realização de exame do fundo do olho para deteção da retinopatia diabética (Internacional Diabetes Federation, 2017).

A nefropatia diabética atinge cerca de 20 a 50% das pessoas com diabetes, sendo uma das principais causas de mortalidade, podendo culminar na insuficiência renal terminal (Direção Geral da Saúde, 2011c). Os níveis elevados de glucose no sangue conjuntamente com a hipertensão são os principais fatores de risco no desenvolvimento desta complicação da diabetes (Direção Geral da Saúde, 2011c).

A neuropatia diabética é uma complicação frequente da diabetes, e os níveis elevados de glucose no sangue podem provocar danos nas células nervosas periféricas. O diagnóstico de neuropatia diabética é feita por exclusão de outras causas. Esta complicação pode afetar diversas partes do corpo, gastrointestinais e urinárias, entre outras. Nos homens pode causar disfunção erétil e/ou ejaculação precoce (Diabetes care, 2017a; International Diabetes Federation, 2017).

O pé diabético é uma consequência da aterosclerose das artérias dos membros inferiores (doença arterial periférica) e da neuropatia, que culmina com o aparecimento de úlceras que podem levar, em última instância, à amputação do membro inferior. A nível mundial cerca de 4 milhões de diabéticos desenvolvem uma úlcera no pé. Em Portugal o número de amputações devido a pé diabético tem vindo a diminuir, muito devido à implementação, nos últimos anos, de consultas multidisciplinares de pé diabético (Ferreira&Carvalho, 2013).

Na diabetes gestacional o nível elevado de glicose no sangue da gestante mesmo que mínima pode levar a aborto, macrosomia, maior taxa de cesarianas, malformações congénitas no feto, pré-eclampsia e complicações obstétricas. Os filhos nas mulheres que tiveram diabetes gestacional têm um risco acrescido de desenvolverem diabetes tipo 2 mais cedo do que se não tivessem expostos a um ambiente diabético na vida intrauterina (International Diabetes Federation, 2017; Marques, Rocha, Amaral, Aleixo&Guerra, 2012).

5 Terapêutica

O aumento da Prevalência da DM, o número de pessoas tratadas, bem como as doses utilizadas na terapêutica, têm sido apontados como as razões do aumento de consumo de insulinas e antidiabéticos orais na Europa e em particular em Portugal, como se pode constatar na figura 4 (Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

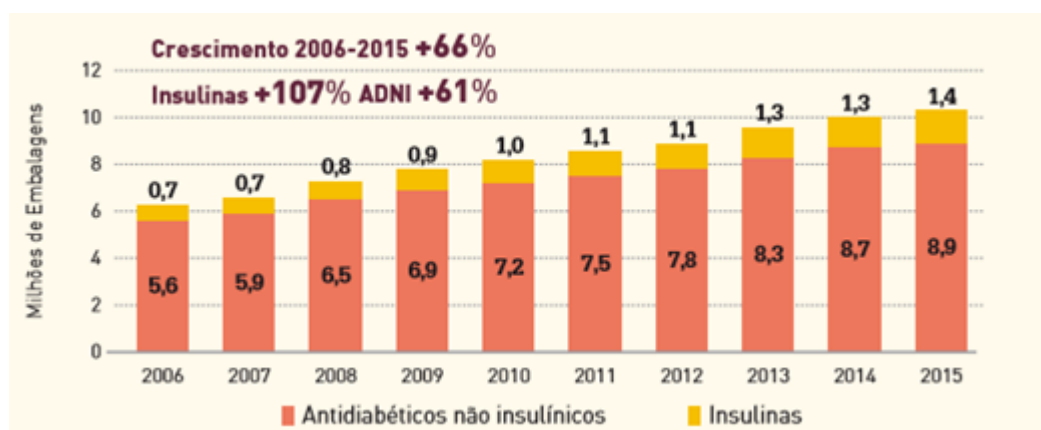


Figura 4 - Consumo em ambulatório de insulinas e antidiabéticos não insulínicos, vendidos em Portugal continental (Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes, 2016).

A terapêutica na DM tem como finalidade, o controlo dos níveis de glicemia no sangue a diminuição dos sintomas de descompensação aguda, e das complicações tardias micro e macrovasculares e melhoria da qualidade de vida. (Direção Geral da Saúde, 2015)

A terapêutica para a DM1 é efetuada exclusivamente com insulina uma vez que, são insulino-dependente como já referido, enquanto os doentes com DM2 não são insulino-dependentes apenas, recorrem à terapêutica medicamentosa quando as mudanças de estilo de vida são insuficientes para o controlo dos níveis de glicose no sangue; a terapêutica medicamentosa nestas situações consiste essencialmente na administração de ADO (Direção Geral da Saúde, 2015).

5.1 Insulina

A insulina é uma hormona polipeptídica, secretada pelas células β dos Ilhéus de Langerhans do pâncreas, composta por 2 cadeias de aminoácidos: a cadeia A (ácida) e a cadeia B (básica), ligadas por duas pontes sulfídricas. A insulina regula o metabolismo

dos hidratos de carbono, dos lípidos e das proteínas (Infarmed, 2011; Direção Geral da Saúde, 2013).

As insulinas variam consoante o início e duração da ação e o tempo necessário para atingir a sua concentração máxima, e são classificadas em: insulinas de ação ultracurta, ação curta, ação intermédia e de longa duração ou de ação lenta ou ultralenta. A principal via de administração de insulina é subcutânea, uma vez que é degradada pelas enzimas gastrointestinais, mas também pode ser administrada por via intramuscular, intravenosa ou intraperitoneal, de acordo com a situação clínica do doente (Infarmed, 2011; Direção Geral da Saúde, 2013).

5.2 Antidiabéticos orais

Os antidiabéticos orais (ADO) utilizam-se nos doentes com DM do tipo 2 sem complicações de cetoacidose. Esta terapêutica pode dividir-se em diferentes classes, consoante o mecanismo de ação na regulação da glicémia, tais como: sensibilizantes da insulina, secretagogos de insulina, terapêutica baseada no efeito incretina, retardadores da absorção de hidratos de carbono e glicosúricos (Infarmed, 2011).

Os sensibilizantes da insulina como a Biguanidas são a terapêutica de primeira linha da Diabetes Mellitus (Direção Geral da Saúde, 2011d; Direção Geral da Saúde, 2015). A ação desta classe de fármacos é na redução da absorção gastrointestinal de glicose, na neoglicogenese hepática e no aumento da utilização periférica de glucose (Infarmed, 2011; Direção Geral da Saúde, 2013; Direção Geral da Saúde, 2015).

Os secretagogos de insulina como as sulfonilureias e as meglitinidas estimulam a libertação de insulina sem influenciar a sua síntese, tendo como ação os receptores dos canais SUR-1 da célula β pancreática (Direção Geral da Saúde, 2013; Infarmed, 2011; Direção Geral da Saúde, 2015).

A terapêutica baseada no efeito da incretina como os inibidores da dipeptidil-peptidase 4 (DPP-4) é eficaz na regulação da glicémia, por inibição da ação da enzima DPP-4), aumentando a sensibilidade das células β do pâncreas à glicose e consequente libertação da insulina (Direção Geral da Saúde, 2013; Zong, Gong, Goud, Srinivasamaharaj & Rajagopalan, 2015).

Os retardadores de absorção de hidratos de carbono, como os inibidores da alfa-glucosídase intestinal, retardam a digestão de dissacáridos, oligossacáridos por inibição das enzimas alfa-glucosidases, e conseqüentemente, provocam uma liberação mais lenta da glicose proveniente dos hidratos de carbono e uma absorção também lenta pela circulação (Direção Geral da Saúde, 2013).

Os fármacos glicosúricos para além de serem inibidores do co-transportador sódio-glucose 2 (SGLT2) são uma classe de fármacos que atuam no SGLT2 dos rins, inibindo a reabsorção da glucose no filtrado glomerular, assim com a inibição promove uma diurese osmótica, reduzindo a glicemia através da via independente da insulina (Hasan, Alsahli&Gerich, 2014).

6 Diagnóstico

O primeiro critério para diagnóstico de DM da Organização Mundial de Saúde foi estabelecido em 1980. Este critério era baseado nos níveis de glicemia em jejum e após 2 horas a ingestão de uma certa quantidade de glucose em adultos e não grávidas. Em 1997, a este critério ainda foi adicionado o valor de *fasting* plasma glucose mais centrado no diagnóstico. Em 2009 um comité internacional de diagnóstico e monitorização da diabetes recomendou que a hemoglobina glicada fosse considerado um teste adicional a ser utilizado para o diagnóstico de diabetes tipo 2 (Diabetes Care, 2017b; World Health Organization, 2011)

Segundo a norma da DGS nº 002/2011 de 14/01/2011 o diagnóstico de DM é feito com base nos seguintes parâmetros e valores para plasma venoso na população em geral (Direção Geral da Saúde, 2011a) (Tabela 1):

Tabela 2 - Parâmetros e valores de diagnóstico de diabetes Mellitus (adaptado Diabetes care, 2018; Direção Geral da Saúde, 2011a).

Glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl (ou $\geq 7,0$ mmol/l)
Glicemia às 2 horas, na prova de tolerância à glucose oral (PTGO) ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l)
Hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol)
Sintomas clássicos de hiperglicemia ou crise hiperglicémica, com glicemia ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l)

Segundo a norma da DGS nº 002/2011 o diagnóstico de uma pessoa assintomática não grávida não deve ser feito com base num único valor anormal de glucose em jejum ou HbA1c, devendo sempre confirmar numa segunda análise após 1 ou 2 semanas (Direção Geral da Saúde, 2011a).

O diagnóstico de diabetes gestacional é feito com base noutros valores, conforme tabela 3:

Tabela 3 – Parâmetros e valores de diagnóstico da diabetes Gestacional.

Análise	Valores (mg/dl)	Valores (mmol/l)
1º Consulta de gravidez		
Glicémia de Jejum	≥ 92 mg/dl e < 126 mg/dl	$\geq 5,1$ e $7,0$ mmol/l
Se a glicemia em jejum < 92 mg/dl, às 24-28 semanas de gestação		
PTGO com 75 g de glucose Diagnóstico de diabetes gestacional a confirmação de um ou mais valores	Às 0 horas, glicémia ≥ 92 mg/dl	$\geq 5,1$ mmol/l
	À 1 hora, glicemia ≥ 180 mg/dl	$\geq 10,0$ mmol/l
	Às 2 horas, glicemia ≥ 153 mg/dl	$\geq 8,5$ mmol/l

A sintomatologia de hiperglicemia difere caso se trate da DM1 ou de DM2. Na DM1 há um desenvolvimento rápido da doença, acompanhada pela perda total ou quase da secreção de insulina na célula β pancreática. Os sintomas clássicos na DM1 são: poliúria, frequentemente associada a uma glicosúria; polidipsia; polifagia; perda de peso; cansaço/fadiga; infeções frequentes; alterações visuais; câibras musculares (Moura, 2015).

Os sintomas na DM2 são semelhantes aos da DM1, embora se manifestem de forma menos intensa. Devido a este facto, os sintomas podem passar despercebidos ou o doente não lhe dar importância para recorrer ao médico, fazendo com que o diagnóstico seja feito mais tarde aquando da realização de rastreios ou quando alguma complicação decorrente da diabetes se manifeste como infeções da pele ou do trato urinário, ou com complicações macrovasculares (Moura, 2015).

6.1 Parâmetros

6.1.1 Glicemia

Por muitos anos foi o único método recomendado pela OMS para o diagnóstico de DM (Sacks, et. al. 2011).

Em termos pré-analíticos a determinação da glucose em jejum deve ser feita de manhã após 8 horas em jejum (Sacks, et. al. 2011). A diminuição da concentração de

glucose na amostra é um problema subestimado mas que deve ser tido em conta. Esta diminuição deve-se à glicólise, em termos absolutos a perda de glucose é de cerca de 0,67 mmol/L (12 mg/dl) e ocorre à concentração de 5,55 mmol/L (100 mg/dl) após 2 horas à temperatura ambiente. O inibidor de glicólise mais utilizado é o flureto de sódio, mas este inibidor têm pouco efeito nas primeiras 1-2 horas após a colheita, sendo este facto um importante erro analítico. Para minimizar a perda de glucose na amostra é recomendado por David E. Bruns que se processe a amostra imediatamente ou que se coloque de imediato a amostra de sangue em gelo ou se centrifugue a amostra numa centrifugadora refrigerada e remover o plasma rapidamente (Sacks, et. al. 2011; Bruns&Knowler, 2009).

A glucose pode ser determinada diretamente do sangue ou do soro e plasma, mas a organização mundial de saúde recomenda que o diagnóstico seja feito no plasma venoso. A molalidade da glicose no sangue sem centrifugação é idêntica à do plasma, apesar de os eritrócitos serem permeáveis à glucose (Sacks, et. al. 2011).

Assim a instabilidade da glucose no sangue com ou sem flureto de sódio, não só induzem erros na classificação do paciente mas também introduzem erros na epidemiologia da doença (Bruns&Knowler, 2009).

Segundo as recomendações publicadas na Diabetes Care em 2011, com base na variação biológica, a determinação da glucose deve ter uma imprecisão analítica de $\leq 2,9$ % (Sacks, et al. 2011).

A determinação da glucose é feita exclusivamente por métodos enzimáticos, nos EUA é utilizado hexocinase e a glucose oxidase e menos de 1% dos laboratórios utilizam a glucose desidrogenase. O método de determinação da glucose não influencia o resultado, o que foi confirmado por um estudo feito em 6000 laboratórios (Sacks, et. al. 2011).

O princípio do método enzimático hexocinase, baseia-se em duas reações enzimáticas acopladas, das quais participam as enzimas hexocinase e a glucose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD). Na primeira reação, a glucose é fosforilada pelo ATP na presença da enzima hexocinase e Mg^{2+} . A glucose-6-fosfato formada pela reação anterior é oxidada pela enzima glucose-6-fosfato desidrogenase na presença do cofator NADP. A quantidade de NADP reduzido na reação é diretamente proporcional à concentração de glucose na amostra (Sacks&Path, 2008).

Outro método enzimático utilizado na determinação da glucose é através da enzima glucose oxidase. Neste método a enzima glucose oxidase catalisa a oxidação da glucose a ácido glucónico e peróxido de hidrogénio. Numa segunda reação a enzima

peroxidase e um aceitador cromogénico de oxigénio reage com o peróxido de hidrogénio resultante da reação anterior e forma um composto corado Esta segunda reação é pouco específica uma vez que, várias substâncias podem inibir a reação tais como ácido úrico, ácido ascórbico, bilirrubina e a hemoglobina (Sacks&Path, 2008).

6.1.2 Prova de Tolerância à glicose oral

A prova de tolerância à glicose oral (PTGO) consiste em determinar a glicemia em jejum e após 2 horas da ingestão de uma solução de 200 ml com 75 g de glicose em adultos; nas crianças a solução de glucose deve ter em conta a razão de 1,75 g/kg; nas grávidas as determinações de glicemia são efectuadas 0, 60 e 120 minutos após sobrecarga de 75g de glicose (diluída em 300ml de água). Esta prova é mais sensível que a determinação da glicémia em jejum (Sacks&Path, 2008; Direção Geral da Saúde, 2011b).

A PTGO pode ser afetada por diversos fatores, dando falsos positivos ou falsos negativos. Esses fatores podem ser: medicação que pode afetar a glicémia como os contraceptivos, corticoides entre outros, a duração do jejum inferior a 8 horas, a quantidade de solução ingerida, a manutenção do repouso durante a prova (Sacks&Path, 2008; Direção Geral da Saúde, 2011b).

6.1.3 Hemoglobina glicada A1C (HbA1c)

A hemoglobina glicada A1c é a média dos níveis de glicose no sangue dos últimos 120 dias. O processo de glicação da hemoglobina glicada A1c consiste na ligação do grupo aldeído da glicose com o grupo aminoácido livre da hemoglobina, formando uma base de Schiff, uma forma lábil e reversível. Esta molécula pode dissociar-se ou formar uma cetoamina, um composto irreversível denominado de rearranjo de Amadori ou HbA1c (Figura 5) (Sherwani, Khan, Ekhzaimy, Massod&Sakharkar, 2016).

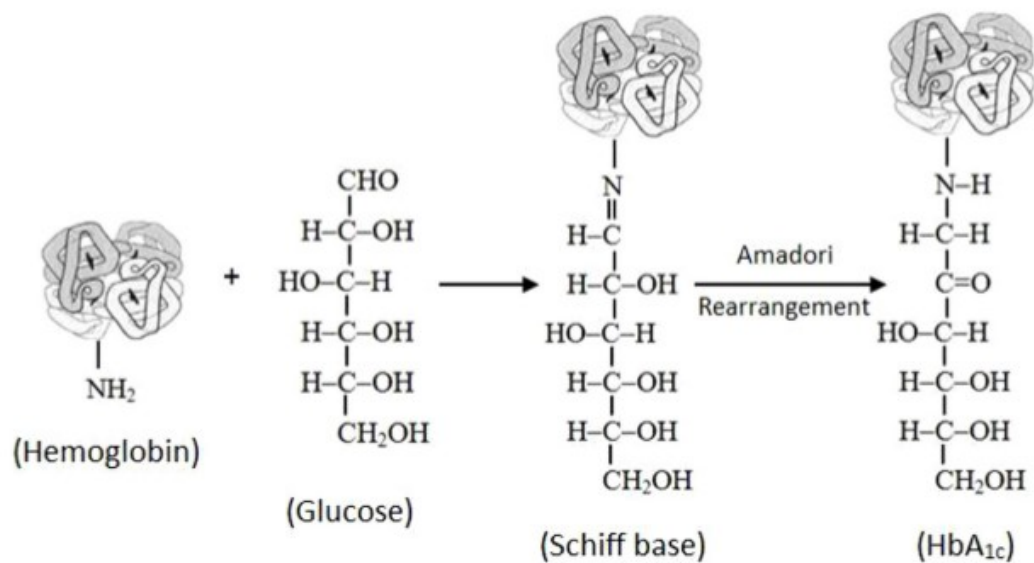


Figura 5 – Reação de glicação da Hemoglobina A. fonte (Sherwani, Khan, Ekhzaimy, Massod&Sakharkar, 2016)

Os profissionais de saúde devem ter em atenção as potenciais interferências que podem afetar a determinação do parâmetro HbA_{1c} para além da glicose, tais como, as hemoglobinopatias, anemias, efeito de drogas, fármacos e condições de saúde que se encontram descritas na tabela 4 (Direção Geral da Saúde, 2012; Kilpatrick, 2008).

Tabela 4 - Fatores que podem afetar a determinação da HbA1c. Adaptada da: (World Health Organization, 2011)

	Aumento da HbA1c	Diminuição HbA1c
Eritropoiese	Deficiência em ferro, vitamina B12, diminuição da eritropoiese.	Administração de eritropoietina, ferro, vitamina B12. Reticulócitos, doença crónica do fígado.
Alterações na hemoglobina	Alterações genéticas e químicas da hemoglobina; Hemoglobinopatias; Hemoglobina fetal; Metahemoglobina.	
Glicação	Alcoolismo; Doença renal crónica; Diminuição do pH dos eritrócitos.	Aspirina; Vitamina C e E; Aumento do pH dos eritrócitos.
Destruição de eritrócitos	Aumento de vida dos eritrócitos; Esplenectomia.	Diminuição do tempo de vida dos eritrócitos; Esplenomegalia; Artrite reumatoide; Antirretrovirais.
Ensaio	Hiperbilirubinemia, alcoolismo, grandes doses de aspirina; Consumo de opiáceos.	Hipertrigliciridemia.

Existem diversos métodos disponíveis para a determinação da A1c, tais como: HPLC (Cromatografia líquida de alta pressão), cromatografia de troca iónica, eletroforese em gel de agarose, imunoensaios, cromatografia por afinidade, espectroscopia de massa e eletroforese capilar. Os valores da HbA1c não são comparáveis entre si. Após vários estudos para a padronização do método de determinação da HbA1c, constatou-se que existia uma relação linear entre os métodos da *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) (espectroscopia de massa e a eletroforese capilar) e os métodos propostos pelo *Diabetes Control and Complication Trial* (DCCT) (HPLC), como se pode observar na figura 6. Assim a relação linear permitiu o cálculo de

uma fórmula que converte um valor IFCC, num valor DCCT (Guimarães, Bastos&Carvalho, 2006).

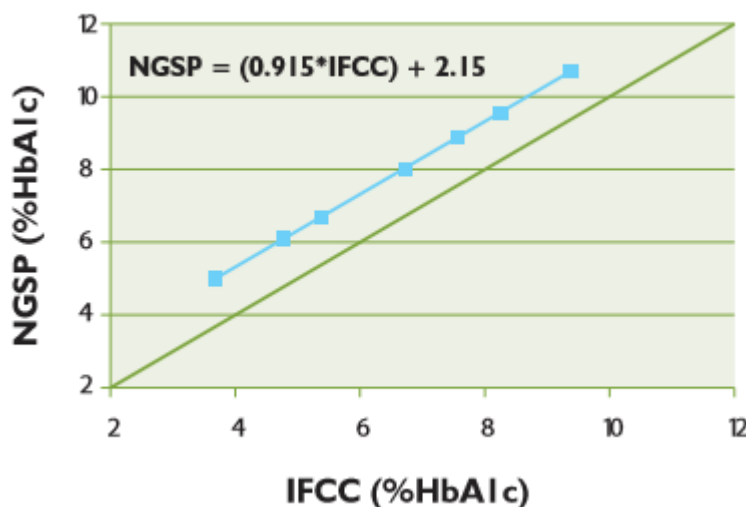


Figura 6 - Relação entre a HbA1c – DCCT (NGSP) e HbA1c – IFCC. Fonte (Guimarães, Bastos&Carvalho, 2006).

Segundo as recomendações da ADA e da DGS os métodos utilizados na determinação da HbA1c devem ter em consideração as potenciais interferências como a prevalência de hemoglobinopáticas na sua população. Devem ser apenas métodos certificados pelo *Nacional Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), rastreáveis à referência do DCCT e calibrados de acordo com a padronização da IFCC. Os laboratórios devem ainda, para a determinação da HbA1c, utilizar dois níveis de controlo interno para além das verificações recomendadas pelo fabricante. É recomendado a participação em programa de avaliação externa da qualidade para a determinação deste parâmetro. São desejáveis coeficientes de variação intralaboratoriais < 2% e interlaboratoriais < 3,5% (Direção Geral da Saúde, 2012; Sacks et al. 2011).

Vários estudos têm demonstrado que a precisão dos métodos de doseamento da HbA1c, variam na presença de variantes da hemoglobina (Alves, M., Bastos, M., Carvalheiro, F., Carrilho, F., 2013; Guedes et al. 2017; Little et al. 2008; Smaldone, 2008; Mongia, 2008).

Uma dada hemoglobinopatia pode interferir de diferentes modos em diferentes testes laboratoriais (Alves et al. 2013). Os métodos por imunoensaios, enzimáticos e cromatografia de afinidade do boronato interferem com as variantes HbS e HbC (Mongia

et al. 2008). Nas variantes HbE e HbD, o método por HPLC é impreciso (Little et al. 2008). O NGSP disponibiliza informação actualizada acerca das interferências dos métodos para as principais hemoglobinopatias, HbS, HbC, HbD, HbE e HbF, existindo métodos que não sofrem interferência na presença de qualquer uma destas variantes. Quando o resultado do doseamento da HbA1c é superior a 15% ou inferior ao limite inferior do seu intervalo de referência, deve levantar-se a suspeita da presença de uma hemoglobinopatia (Guedes et al., 2017).

Os resultados de HbA1c devem ser reportados nas unidades IFCC (mmol/mol) e nas unidades NGSP (%). A DGS recomenda a apresentação do valor da glicemia média estimada, obtida através da equação linear da figura 6 (Direção Geral da Saúde, 2012).

A vantagem da HbA1c para o diagnóstico de DM é o facto de haver pouca variabilidade biológica, de a amostra ser estável, de não sofrer alterações por fatores agudos e de as amostras poderem ser obtidas a qualquer hora do dia, uma vez que não se necessita de preparação do indivíduo antes da colheita como acontece na determinação da glicemia (Direção Geral da Saúde, 2012).

6.2 Diagnóstico etiológico da diabetes Mellitus primária

O diagnóstico etiológico da DM primária compreende a DM1 (incluindo a forma LADA) e DM2. Pode ser efetuado recorrendo à determinação de insulina, péptido C e determinação de anticorpos anti célula β . A determinação da insulina e do péptido C, nem sempre ajuda na distinção dos dois tipos de diabetes, mas permite confirmar se o doente necessita de terapêutica com insulina. A determinação de anticorpos anti célula β no diagnóstico da DM é útil para clarificação do tipo de diabetes Mellitus (Diabetes Care, 2017b; Sacks, 2017).

6.2.1 Insulina

A insulina é sintetizada pelas células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, sob a forma de pro-insulina que após clivagem enzimática forma insulina e péptido C. A determinação da concentração da insulina no plasma ou soro permite uma clarificação na classificação do tipo de diabetes e auxiliar na determinação da terapêutica de alguns

doentes com diabetes tipo 2. Na avaliação do doseamento da insulina parte-se do princípio que os doentes com diabetes Mellitus tipo 1 têm insulinopenia absoluta, com perda da função secretória das células β e no caso dos doentes com diabetes Mellitus tipo 2 apresentam secreção de insulina normal, diminuída ou até elevada (Stanten, Stern, Miller, Steffes&Campbell, 2010; Yilmaz, Kadioglu & Capoglu, 2012).

A determinação da insulina pode ser feita em jejum ou após estímulo com glucose. Existem vários métodos utilizados para determinação da insulina, tais como radioimunoensaios, imunoensaios enzimáticos, imunoensaios luminescentes, cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) e eletroforese capilar (Yilmaz, Kadioglu&Capoglu, 2012). A unidade internacional utilizada para a concentração da insulina é a pmol/l. Até ao momento não existe uma harmonização do método para determinação da concentração da insulina, o que torna este parâmetro pouco utilizado na prática (Staten, et. al., 2010; Yilmaz, et al., 2012).

Vários fatores podem interferir na determinação da insulina como, o fato de apresentar um tempo de vida curto, extração hepática variável e clearance intra e interindividual muito variável, não refletindo assim a concentração de insulina no indivíduo. Os valores de referência em jejum de um indivíduo sem DM e não obeso, é inferior a 60 pmol/L. Na determinação deste parâmetro não há a distinção entre insulina endógena e exógena, não podendo ser utilizado em doentes com insulinoaterapia (Sacks & Path, 2008; Leighton, Sainsbury & Jones, 2017).

6.2.2 Péptido C

O Péptido C é produzido na célula β pancreática conjuntamente com a insulina formando a proinsulina, que sofre clivagem enzimática e obtém-se insulina e péptido C em quantidades equimolares, este têm um tempo de semivida mais longo que a insulina (cerca de 30 min) uma vez que não é metabolizado pelo fígado e não apresenta reatividade cruzada com a pró-insulina e seus intermediários. Assim a determinação do péptido C têm sido considerado mais adequado e aceite clinicamente para a avaliação da função da célula β pancreática. Mas em avaliações na secreção de insulina em curtos intervalos de tempo a determinação da insulina sob estímulo de glicose é considerada mais útil, uma vez que tem um tempo de semivida mais curto (Leighton, Sainsbury&Jones, 2017; Jones, Hattersley, 2013).

O doseamento deste parâmetro pode ser basal, randómico ou com estímulo. Existem vários métodos para a determinação do péptido C, por radioimunoensaio, quimiluminescência, fluorescência e com a utilização de anticorpos monoclonais, não havendo até ao momento uma standardização dos métodos (Jones, Hattersley, 2013).

Os níveis de péptido C devem ser interpretados com cautela em doentes com insuficiência renal, uma vez que metade do péptido C é metabolizado nos rins e 5-10% é eliminado pela urina (Leighton, Sainsbury&Jones, 2017; Jones, Hattersley, 2013). Outro fator a ter em conta é a presença em grande número de anticorpos anti-insulina que se ligam à proinsulina e péptido C (Leighton, Sainsbury&Jones, 2017).

No doseamento do péptido C é necessário ter alguns cuidados na colheita devido à ação das enzimas proteolíticas, assim é recomendado que após a colheita o sangue seja centrifugado num curto espaço de tempo (Leighton, Sainsbury&Jones, 2017).

6.2.3 Anticorpos anti célula β

Os anticorpos anti célula β são dos fatores mais importante na deterioração progressiva da célula β pancreática. Os anticorpos anti célula β conhecidos são, anticorpo descarboxilase do ácido glutâmico (GADA), anticorpo célula ilhéu (ICA), proteína associada ao insulinoma (IA2) , insulina anticorpo (IAA) e transportador do zinco ZnT8 (ZNT8A). Apesar da autoimunidade ser característica da DM1 também pode ser encontrada em indivíduos com diagnóstico de DM2 (Abreu, Velosa, Grade, Portugal, Mendes & Raposo, 2012).

A determinação dos anticorpos anti célula β é realizada no soro ou no plasma. São vários os métodos utilizados na determinação dos anticorpos anti célula β , tais como: imunoensaios, radio-binding, imunofluorescência e radioimunoensaio. Sendo o método por imunoensaio, o mais utilizado para a determinação de IAA, GADA, IA2 e ZnT8A (Misra, 2017; Sacks, et. al. 2011).

Os anticorpos anti célula beta podem estar presentes anos antes do estabelecimento da diabetes tipo 1, e a progressão da doença está associada à presença de múltiplos anticorpos. Ainda é desconhecido o papel que estes anticorpos tem na patogenia da DM, mas a deteção destes tem sido utilizada para diferenciar entre DM1 e DM2; para monitorização de indivíduos sem história familiar de diabetes Mellitus que doaram uma

parte do pâncreas ou rim para transplante; prever e tentar prevenir o desenvolvimento da DM1 (Sacks, et. al. 2011; Shuhong, Hai, Westley, 2013).

O GADA está presente em 90% dos doentes com LADA, sendo este parâmetro utilizado para o diagnóstico de LADA. Um doente com título GADA positivo está associado a uma progressão mais rápida para insulino terapia, uma vez que tem maior risco de falência prematura das células beta (Alves, et al., 2016; Sacks, 2017). Estudos mostram que o GADA está presente 10 anos antes das manifestações clínicas de DM 1 e está presente em 60% dos doentes recentemente diagnosticados com DM 1 (Sacks, 2017).

A determinação do anticorpo anti insulina tem interferência com a insulina exógena, assim não pode ser utilizado por doentes sob terapêutica com a administração de insulina (Sacks, 2017).

7 Monitorização

A monitorização da DM tem como objetivo a prevenção das suas complicações microvasculares e também macrovasculares, provocadas por níveis hiperglicémicos no sangue. Os parâmetros laboratoriais utilizados para a monitorização da diabetes são: a glicemia, a hemoglobina glicada, a microalbuminúria, e os corpos cetónicos. Têm surgido nos últimos anos a introdução da frutossamina, albumina glicada e 1,5 androglucitol como parâmetros para a monitorização da diabetes Mellitus. Os parâmetros acima descritos são neste capítulo descritos individualmente.

7.1 Glicemia

A determinação da concentração de glicose pelos aparelhos automáticos é utilizado pelos indivíduos já diagnosticados com diabetes Mellitus para monitorização da glucose. A utilização deste tipo de equipamento pelo doente com DM é importante para evitar hipoglicémias (Sacks et. al., 2011).

São numerosos os fatores que podem interferir com a determinação da glucose, utilizando os equipamentos portáteis. Alguns desses fatores, tais como o uso inadequado, a altura da medição e o excesso de sangue, têm vindo a ser eliminados com o avanço da tecnologia e com a crescente informação dos utilizadores. As variáveis que podem influenciar os resultados destes equipamentos na determinação da concentração da glucose incluem: variação no hematócrito, altitude, temperatura e humidade, hipotensão, hipoxia, aumento da concentração dos triglicéridos e algumas drogas (Sacks et al., 2011).

Estes equipamentos utilizam um método enzimático na determinação da glucose. Alguns equipamentos tem membrana que separa os eritrócitos e a análise é efetuada no plasma. É um bom método para a auto-monitorização do paciente no seu dia-a-dia (Sacks et al., 2011).

7.2 HbA1c

A hemoglobina glicada A1c (HbA1c) é utilizada como rotina para a monitorização das pessoas com diabetes Mellitus para avaliar o grau de controlo glicémico, uma vez que é um indicador de grande utilidade clínica, refletindo a glicémia média dos últimos 120

dias, que corresponde ao tempo médio de vida dos eritrócitos. (Direção Geral da Saúde, 2012; Sacks et al., 2011).

Segundo recomendações da DGS, a determinação da HbA1c deve ser efetuada em todos os doentes com diabetes Mellitus pelo menos semestralmente. Em doentes cujo tratamento foi alterado recentemente ou que não alcançaram os objetivos terapêuticos, deve ser realizada com maior frequência, com um intervalo mínimo de 3 meses (Direção Geral da Saúde, 2012).

A HbA1c não nos indica a variação pontual da hiperglicemia ou de hipoglicemia. Para pacientes propensos a variabilidade na glicemia, especialmente pacientes com diabetes tipo 1 ou tipo 2, com severa deficiência de insulina, o controlo da glicemia é o melhor método (Sacks et al., 2011; Rohlfing et al., 2002).

A Hemoglobina glicada A1c não é só um biomarcador da glicémia, mas também um bom parâmetro para avaliar os riscos de desenvolver complicações crónicas da diabetes ou de complicações relacionadas com a gravidez e parto nas mulheres com diabetes prévia à gravidez (Sherwarni, Khan, Ekhzaimy, Masood & Sakharkar, 2016).

Um estudo realizado no fim de década de 90, pelo *United Kingdom Prospective Diabetes Study* e *Diabetes Control and complications Trial*, mostram o impacto do não controlo da glicémia sobre os riscos de complicações associadas à patologia, como a retinopatia, nefropatia, neuropatia, conforme se observa na figura 7 (Netto et. al., 2009).

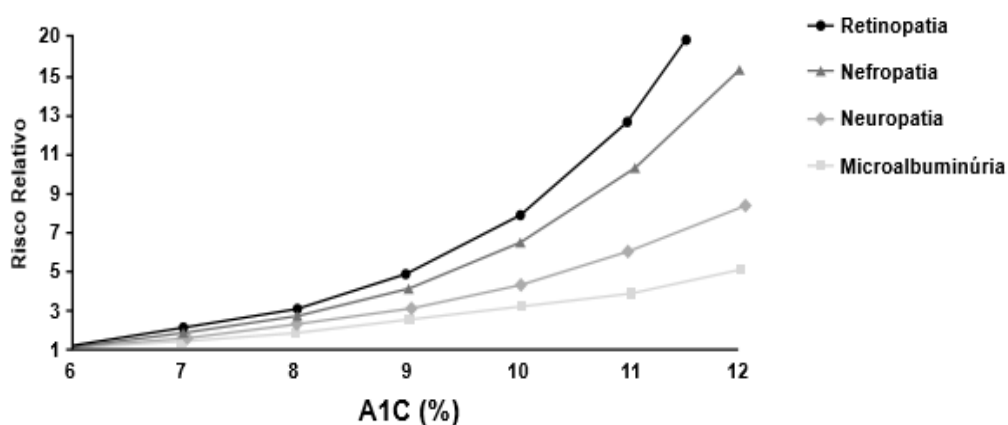


Figura 7 - Risco de complicações microvasculares e os valores de HbA1c. (Adaptado de Netto et. al., 2009)

Noutro estudo realizado com 1011 diabético do tipo 2, foi observado que existe uma correlação direta entre a HbA1c e o colesterol, triglicéridos e LDL, e uma correlação inversa com a HDL quando comparado com pacientes não diabéticos (Figura 8) (Sherwarni, Khan, Ekhzaimy, Masood&Sakharkar, 2016).

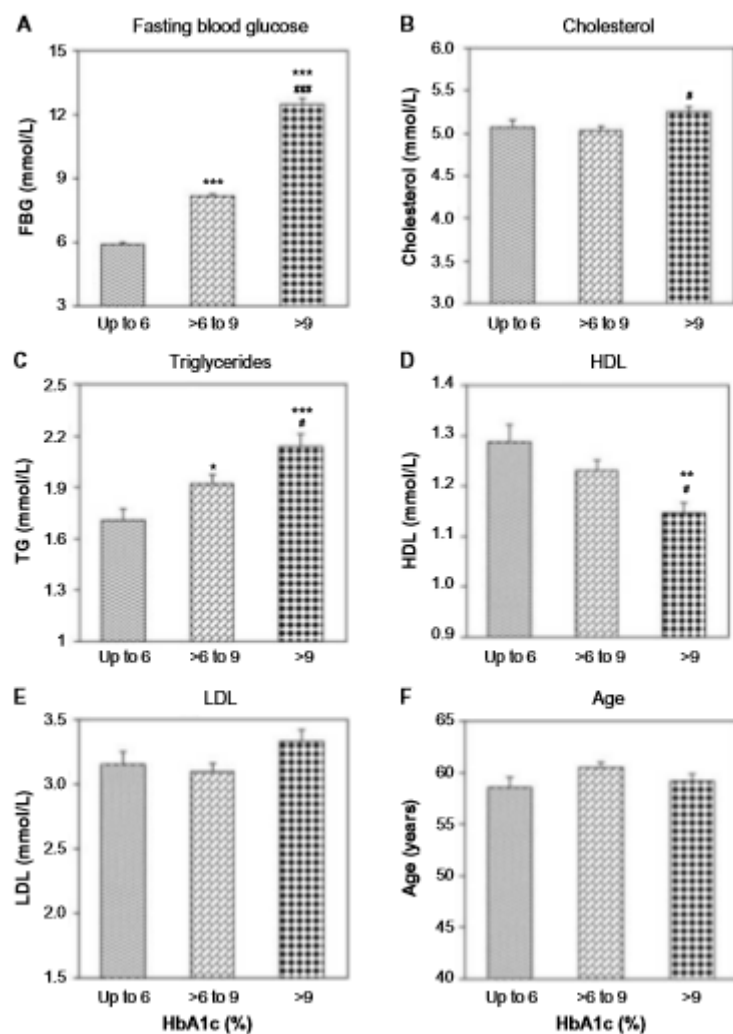


Figura 8 - O impacto da HbA1c em diversos parâmetros (Sherwani et al., 2016).

A HbA1c é um parâmetro imprescindível na monitorização da diabetes Mellitus, de forma a prevenir as complicações crónicas da patologia e prolongar a qualidade de vida dos doentes (Sherwarni et al., 2016).

7.3 Albuminúria

A albuminúria está bem estabelecida como um marcador de risco cardiovascular. A realização da determinação da albuminúria anualmente em doentes com diabetes Mellitus e/ou doenças renais é a recomendação da DGS para a monitorização da diabetes Mellitus e/ou doenças renais (Direção Geral da Saúde, 2011c).

Nos doentes com DM1, o aumento da concentração da albuminúria está associado a risco aumentado de nefropatia, retinopatia, neuropatia diabética e doença cardiovascular. No caso da DM2 está associado aos mesmos riscos que na DM1 exceto na neuropatia diabética. Segundo as orientações da Direção Geral de Saúde os doentes com diabetes tipo 1, devem, 5 anos após o diagnóstico, ser avaliados uma vez por ano para identificação de eventual nefropatia diabética, através do doseamento de albuminúria/proteinúria e de creatinémia, bem como, as pessoas com diabetes tipo 2, logo após o diagnóstico, uma vez por ano (Direção Geral da Saúde, 2011c).

A determinação da albuminúria pode ser feita numa colheita de urina ocasional ou colheita de urina minutada com registo do tempo a que corresponde a recolha da urina: a última micção antes da colheita (tempo zero), o da colheita da última urina (tempo final) e a urina da 24 horas (Tabela 5) (Direção Geral da Saúde, 2011e).

Tabela 5 - Métodos para a avaliação da albumina na urina. (Direção Geral da Saúde, 2011e)

Albuminúria	Urina Ocasional ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina na urina)	Urina minutada	Urina de 24 horas ($\text{mg}/24\text{h}$)
Normal	< 30	< 20	< 30
Microalbuminúria	30-299	20-199	30-299
Macroalbuminúria	≥ 300	≥ 200	≥ 300

A determinação da albuminúria não deve ser efetuado se o doente tiver feito exercício moderado ou intenso nas 24 horas prévias, se houver infeção urinária, febre, insuficiência cardíaca congestiva, descompensação dos valores da glicémia ou hipertensão não controlada. Nestes casos podemos obter falsos positivos (Direção Geral da Saúde, 2011e).

O método mais utilizado para a determinação da albuminúria é por imunoturbidimetria, que se baseia na utilização de um anticorpo específico para a albumina humana resultando na formação de um complexo antígeno-anticorpo. Este método é o mais confiável uma vez que têm 95% de sensibilidade e especificidade para a deteção de baixos níveis de albuminúria (Sacks et al., 2011; Wendland, Azevedo, Gross & Camargo, 2007).

7.4 Corpos cetónicos

Corpos cetónicos, cetonas e ácido- β -hidroxibutírico são produtos catabólicos dos ácidos gordos. A determinação de cetonas na urina e no sangue é usado para monitorizar os doentes com diabetes com cetoacidose (Sacks et al., 2011).

Os corpos cetónicos estão usualmente presentes no sangue e na urina, mas em concentrações muito baixas ($< 0,5$ mmol). O aumento da concentração de corpos cetónicos em pacientes com diabetes deve-se principalmente a dois mecanismos, aumento da oxidação dos ácidos gordos e diminuição da sua utilização no fígado. Em ambos, este mecanismo está subjacente, uma deficiência absoluta ou relativa na insulina e aumento das hormonas antagónicas à insulina incluindo cortisol, hormona do crescimento e glucagon (Sacks et al., 2011).

A determinação dos corpos cetónicos na urina é feita por um método colorimétrico que ocorre entre os corpos cetónicos e o nitroprussiato de sódio, formando-se um complexo corado de cor violeta. Este método só determina os corpos cetónicos e cetonas e não o ácido- β -hidroxibutírico, sendo este só determinado no sangue (Sacks et al., 2011).

Existem vários métodos para a determinação de corpos cetónicos no sangue tais como: colorimétricos; cromatografia gasosa; eletroforese capilar; enzimáticos. O método enzimático é o mais utilizado, tendo como princípio a reação da β -hidroxibutírico desidrogenase que na presença de NAD^+ converte o ácido- β -hidroxibutírico num corpo cetónico e NADH (Sacks et al., 2011).

7.5 Frutosamina

A frutosamina é uma cetoamina que resulta da reação não enzimática irreversível da glicose plasmática e a lisina presente nas proteínas séricas, refletindo a glicemia média de 2-3 semanas (Sacks, 2017; Feitosa&Andrade, 2014; Nansseu et al. 2017).

Este parâmetro é referida na literatura científica como auxiliar para o controlo da glicemia em doentes com DM em situações em que a determinação de HbA1c é limitada devido a hemoglobinopatia, amenia, gravidez, entre outros, conforme descritas na tabela 4 (Danese, Montagnana, Nouvenne&Lippi, 2015).

Os métodos mais utilizados para determinação da frutosamina são colorimétricos, enzimáticos e HPLC, sendo este o método de referência (Danese, Montagnana, Nouvenne&Lippi, 2015; Sacks, 2017)

A determinação da frutosamina pode ser afetada em doentes com síndrome nefrótica, cirrose hepática e patologias da tiróide (Sacks, 2017). Os níveis de vitamina C e imunoglobulinas especificamente a IgA, interferem na determinação da frutosamina (Danese, Montagnana, Nouvenne, Lippi, 2015; Sacks, 2017).

Estudo realizado em 71 grávidas com diabetes pré-gestacional e gestacional, demonstrou que os níveis elevados de frutosamina não representava a média da glicemia de 2-3 semanas e que refletia picos hiperglicémicos, subestimando assim a hipoglicemia (Feitosa&Andrade, 2014). Outros estudos realizados em grávidas demonstram que a frutosamina não deve ser utilizado para a monitorização da diabetes gestacional (Sacks, 2017).

Não existe consenso científico para a utilização deste parâmetro. Vários estudos concluem que a determinação da frutosamina não é confiável outros afirmam que a frutosamina pode ser útil na monitorização da DM, uma vez que pode identificar doentes com risco de desenvolver problemas microvasculares (Sevin et al., 2011; Sacks, 2017).

7.6 Albumina Glicada

O parâmetro albumina glicada não é ainda recomendado para a monitorização da diabetes Mellitus, mas nos últimos anos este parâmetro tem vindo a ser estudado para ser utilizado como indicador da glicemia. Nos estados Unidos da América apenas 6 dos 50

maiores laboratórios de análises clínicas do país, fazem esta determinação (Roohk & Zaidi, 2008).

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, representando 60% da concentração de proteínas existentes no plasma. A albumina glicada resulta da reação não enzimática e irreversível entre a glicose que circula no sangue e a porção N-terminal da lisina. A glicação depende dos níveis e na duração da hiperglicemia (Freitas, Ehlert&Camargo, 2017).

A albumina glicada (AG) reflete a glicemia média de 2-4 semanas, e responde mais rapidamente a alterações da glicemia, uma vez que reflete a evolução mensal dos níveis de glicemia e a resposta ao tratamento. As técnicas utilizadas para a determinação da AG são: HPLC, cromatografia por afinada, imunoensaios, métodos colométricos, eletroquímicos e enzimáticos (Roohk & Zaidi, 2008).

A albumina glicada pode ser alterada por distúrbios no metabolismo da albumina como as alterações da tiroide, síndrome nefrótica e doenças crónicas do fígado (Park, Lee, Chung&Hong, 2016).

A vantagem da utilização da AG relativamente à HbA1c prende-se ao facto, de ter um tempo de vida mais curto, logo revelando uma sensibilização maior e uma deteção mais rápida dos níveis de glicemia. Estudos mostram que a albumina glicada têm uma alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico da Diabetes Mellitus (Park, Lee, Chung&Hong, 2016).

A albumina glicada também é referida na literatura científica como o parâmetro a ser utilizado, quando a determinação da HbA1c não pode ser utilizada (Danese, Montagnana, Nouvenne&Lippi, 2015).

Estudo com 320 doentes com DM 2 concluiu que os níveis elevados de AG indicam uma predisposição para a doença coronária arterial (Danese et al, 2015).

Estudos tem demonstrado que a determinação da AG têm importância clínica na monitorização da DM, uma vez que existe uma correlação direta entre os níveis de AG e as complicações microvasculares (Danese et al., 2015; Selvin et al., 2011).

7.7 1,5 androglucitol

O 1,5 anidroglucitol (1,5-AG) reflete a concentração de glucose ao longo de 2-14 dias. O 1,5 AG é um monossacarídeo semelhante à glicose, diferenciando-se desta apenas pela ausência de um grupo hidroxilo (OH) no carbono 1, que surge naturalmente na dieta (Sacks, 2017).

O 1,5 AG é inversamente proporcional à glicemia, uma vez que o 1,5 AG é filtrado pelo glomerulo renal pelos canais SGLT4 transportador de glucose dependente de sódio. Quando a concentração de glucose excede o limiar de absorção renal, a reabsorção de 1,5 AG decresce, levando a uma rápida redução da concentração de 1,5 AG no sangue, assim uma baixa concentração de 1,5 AG indica hiperglicémia (Sacks, 2017; Ouchi, et al., 2017)

A quantificação do 1,5 AG têm como metodologias a espectrometria de massas, cromatografias e enzimático-colorimétrico (Sacks, 2017; Ouchi, et al., 2017)

Os fatores que interferem com o 1,5AG são a dieta, medicação, doença renal e doença hepática (Sacks, 2017). Estudos recentes tem mostrado uma associação entre baixas concentrações de 1,5-AG e o risco de retinopatia e doença renal crónica em doentes com diabetes. Mas há poucos estudos clínicos para estabelecer o valor clínico deste parâmetro, tornando se assim imprescindível a realização de mais estudos (Sacks, 2017; Selvin et al, 2014).

8 Conclusão

A Diabetes é uma patologia crónica que conduz a uma diminuição na esperança de vida e da qualidade de vida do doente, devido às suas complicações. Assim, o diagnóstico precoce da doença, a prevenção e o controlo analítico dos níveis hiperglicémicos devem ser uma prioridade a nível mundial, para a diminuição da prevalência da doença e das suas complicações.

A HbA1c é utilizada para o diagnóstico/monitorização da DM, uma vez que permite avaliar o histórico glicémico recente na maioria dos doentes. Outras moléculas estão a ser estudadas nos últimos anos, que poderá ser uma mais-valia para a monitorização da diabetes, uma vez que, pode ser utilizada nos indivíduos que apresentem situações clínicas que afetam a determinação da HbA1c e têm um tempo de semivida mais curto.

A nova proposta de classificação da DM lança para discussão a utilização de seis variáveis para o diagnóstico e classificação da DM. Com esta classificação é possível obter mais informações que, segundo os autores do estudo, ajudaria a prever a evolução ao longo do tempo e fornecer informações terapêuticas personalizadas. Mas o estudo é limitado à população escandinava, bem como não tem em conta outras variáveis como o perfil lipídico e outros biomarcadores. Nesta nova proposta também não é feita referência à diabetes gestacional nem aos outros tipos de diabetes.

Se a Diabetes Mellitus pudesse ser claramente definida usando para o diagnóstico biomarcadores, genotipagem e uma análise dos mecanismos moleculares, teríamos uma monitorização e uma terapêutica individualizada para cada doente.

9 Bibliografia

Abreu, B. Velosa, F., Grade, F., Portugal, M., Mendes, V., Raposo, J. (2012). Auto-anticorpos da Diabetes em indivíduos Classificados com DM2: Evolução para insulinoaterapia. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 7 (3), 104-108.

Ahlqvist, E., Storm, P., Karajamaki, A., Martinell, M., Dorkhan, M., Carlsson, A. ... Groop, L. (2018). *Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. The Lancet Diabetes Endocrinol*, 6 (5), 361-369.

Alves, D., Kachan, B., Carboni, C., Mariano, P., Calmeiro, M. E., Silva, R. (2016) LADA numa Unidade Integrada de Diabetes. *Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 23(4), p. 22- 25.

Alves, M., Bastos, M., Carvalheiro, M., Carrilho, F. (2013) Diabetes Mellitus e A1c: A importância das Variantes da Hemoglobina. A Propositos de um Caso Clinico. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 8(1), p. 42-46.

Bruns D. E., Knowler W.C. (2009), *Stabilization of glucose in blood samples.Why it matters*. *Clinical Chemistry*, 55, 850-852.

Danese, E., Montagnana, M., Nouvenne, A., Lippi, G. (2015) *Advantages and Pitfalls of Fructosamine and Glycated Albumin in the Diagnosis and Treatment of Diabetes*. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 9(2) 169-176.

Diabetes Care. (2017a). *Microvasculares complications and foot care*. Volume 40, supplement 1, 88-98.

Diabetes Care. (2014). *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Vol. 37, supplement 1.

Diabetes Care. (2017b) *Classification and Diagnosis of Diabetes*. Vol 40.

Direção Geral de Saúde (2011a) Norma nº 002/2011 de 14/01/2011 diagnóstico e classificação da diabetes Mellitus.

Direção Geral de Saúde (2011b) Norma nº 007/2011 de 31/01/2011 diagnóstico e conduta na diabetes gestacional.

Direção Geral de Saúde (2011c) Norma da DGS nº 008/2011 de 31/01/2011 Diagnóstico sistemático da Nefropatia diabética.

Direção Geral de Saúde (2011d) Norma da DGS nº 001/2011 de 07/01/2011 Terapêutica da Diabetes Mellitus tipo 2: metformina.

Direção Geral de Saúde (2011e) Norma da DGS nº 005/2011 de 31/01/2011, Prevenção e Avaliação da Nefropatia Diabética.

Direção Geral de Saúde (2012) Norma da DGS nº 033/2011 atualizada a 06/12/2012 Prescrição e determinação da Hemoglobina glicada A1c.

Direção Geral de Saúde (2015) Norma da DGS nº 052/2011 atualizada a 27/04/2015 Abordagem Terapêutica Farmacológica na Diabetes Mellitus tipo 2 no adulto.

Direção Geral de Saúde (2013) Processo Assistencial Integrado da Diabetes Mellitus tipo 2.

Falcão, I. M., Pinto, C., Santos, J., Fernandes, M. L., Ramalho, L., Paixão, E., Falcão, J. M. (2008) Estudo da prevalência da diabetes e as suas complicações numa coorte de diabetes portugueses: um estudo na Rede Médicos-Sentinela. *Revista Portuguesa Clínica Geral*, 24, 679-92.

Ferreira, M.A., Carvalho, R. (2013) Pé diabético: Doença complexa abordagem simples. *Revista portuguesa de diabetes*, 8(4), 168-171.

Feitosa, A. C. R., Andrade, F. S. (2014) Avaliação da frutossamina como parâmetro de controle glicêmico na gestante diabética. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 58(7) 724-730.

Freitas, P. A. C., Ehlert, L. R., Camargo, J. L. (2017) *Glycated albumin: a potencial biomarker in diabetes*. Arch Endocrinol Metab. 61/3.

Guedes, V., Silva, R. B., Queirós, J., Esteves, M. L., Teles, M. J., Carvalho, D. (2017). *Hemoglobin Himeji and inconsistent hmoglobin A1c values: a case report*. Journal of Medical Case Report, 11:201.

Guimarães, J., Bastos, M., Carvalheiro, M. (2006) Hemoglobina glicada (A1C): Método e doseamento calibração IFCC/DCCT considerações. Revista Portuguesa de Diabetes, 4, 24-26.

Hasan, F. M., Alsahli, M., Gerich, J. E. (2014) *SGLT2 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes*. Diabetes Research and Clinical Practice, 104(3), 297-322.

International Diabetes Federations (IDF) *Diabetes Atlas* 7th Edition (2015), ISBN: 978-2-930229-81-2

International Diabetes Federations (IDF) *Diabetes Atlas* 8th Edition (2017), ISBN: 978-2-930229-87-4.

Infarmed (2011) *Prontuário terapêutico 10*, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP. Ministério da Saúde.

Jones, A. G., Hattersley, A. T. (2013) *The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes*. Diabetic Medicine, 803-817, doi: 10.1111/dme.12159.

Kilpatrick, E. S. (2008) *Haemoglobin A1c in the diagnosis and monitoring of diabetes Mellitus*. J CLIN PATHOL, 61, 977-982.

Leighton, E. Sainsbury, C. AR., Jones, G. C. (2017) *A practical Review of C- Peptide Testing in Diabetes*. Diabetes Ther , 8, 475-487.

Levy, D. (2018), *Classification, diagnosis and presentation*. Pratical Diabetes Care. Pp.1-25. West Sussex, UK, Wiley.

Little, R. R., Rohlfing, C. L., Hanson, S., Connolly, S., Higgins, T., Weykamp, C. W. ... William, L. R. (2008). *Effects of Hemoglobin (Hb) E and HbD Traits on Measurements of Glycated Hb (HbA1c) by 23 Methods*. Clinical Chemistry, 54:8, 1277-1282.

Marques, C., Rocha, S., Amaral, N., Aleixo, F., Guerra, S. (2012) Existem diferenças entre a primeira e a segunda gravidez com diabetes gestacional?. Revista Portuguesa de Diabetes, 7 (1), 8-12.

Misra, Shivani (2017) *Pancreatic autoantibodies: Who to test and how to interpret the results*. Practical Diabetes, Vol. 34 No. 6.

Mongia, S. K., Little, R. R., Rohlfing, C. L., Hanson, S., Roberts, R., Owen, W. E. ... Roberts, W. (2008). *Effects of Hemoglobin C and S Traits on the Results of 14 Commercial Glycated Hemoglobin Assays*. Clinical Chemistry, 130, 136-140.

Moura, A. M. S. M. (2015) Diabetes Mellitus tipo 2 e medicação antidiabética (Tese de Doutoramento) Universidade de Lisboa.

Nansseu, J. R., Domgue, J. F., Noubiap, J. J. N., Balti, E. V., Sobngwi, E., Kengne, A. P. (2017) *Fructosamine measurement for diabetes mellitus diagnosis and monitoring: a systematic review and meta-analysis protocol*. 5, 1-5.

Nathan, D. M., Meigas, J., Singer, D. E. (1997) *The epidemiology of cardiovascular disease in type 2 diabetes Mellitus: how sweet it is... or is it?* The Lancet, vol 350.

Netto, A. P., Andriolo, A., Filho, F. F., Tambascia, M., Gomes, M. B., Melo, M., Sumita, N. M., Cavalcanti, S. (2009) – Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1c) para avaliação do controlo glicémico e para o diagnóstico da diabetes: aspectos Clínicos e Laboratoriais. Journal Brasileiro Patologia medica Lab. V. 45, nº1, p. 31-48.

Ouchi, S., Shimada, K., Miyazaki, T., Takahashi, S., Sugita, Y., Shimizu, M. ... Daida, H. (2017) *Cardiovascular Diabetology* 16:151.

Paiva, C. (2001) Novos critérios de diagnóstico e classificação da diabetes mellitus. *Medicina Interna* 7(4), p. 234-238.

Park, S., Lee, W., Chung, H., Hong, K. (2016) *Diagnostic Utilily of Serum Glycated Albumin for Diabetes Mellitus and its Correlation With Hyperlipidemia*. *ANNALS OF LABORATORY MEDICINE*, 36, p. 306-312.

Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes (2016). ISBN: 978-989-96663-2-0.

Rohlfing, C. L., Wiedmeyer, H. M., Little, R. R., England, J. D., Tennili, A., Goldstein, D. E. (2002). *Defining the Relationship Between Plasma Glucose and HbA1c. Analysis of glucose profiles and HbA1c in Diabetes Control and Complications Trial*. *Diabetes Care*, 25(2), 275-278.

Roohk, V. R., Zaidi, A. R. (2008) *A review of Glycated Albumin as a Intermediate Glycation Index for Controlling Diabetes*. *Journal of Diabetes Science asn Technology*, Vol. 2, Issue 6, pp. 1114-1121.

Sacks, D. B., Path, F. R. C. (2008) *Carbohydrates*, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, pp 373-401, Sauders: Elsevier.

Sacks, D. B., Arnold, M., Bakris, G. L., Bruns, D. E., Horvath, A. R., Kirkman, M. S., ... Nathan D. M., (2011) *Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and Management of diabetes Mellitus*. *Diabetes Care*, volume 34, e61-e99.

Sacks, David B. (2017) *Diabetes Mellitus*, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry (1160-1199), Sauders: Elsevier.

Selvin, E., Rawlings, A. M., Grams, M., Ronald, K., Steffes, M., Coresh J.(2014) *Association of 1,5- Anhydroglucitol with diabetes and microvascular conditions*. *Clinical Chemistry* 60:11, p 1409-1418.

Selvin, E., Francis, L. M. A., Ballantyne, C. M., Hoogeveen, R. C., Coresh, J., Brancati, F. L., Steffes, M. W. (2011) *Nontraditional Markers of Glycemia*. Diabetes Care, 34, 960-967.

Sherwani, S. I., Khan, H. A., Ekhzaimy, A., Massod, A., Sakharkar, M. K.(2016) *Significance os HbA1c Teste in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Patients*.Libertas Academica, 11. p. 95-104.

Shuhong Han WD, Hai Wang, Westley Reeves (2013) *Novel autoantigens in type 1 diabetes*. Am J Transl Res., 5(4), 379-92.

Smaldone, A. (2008). *Glycemic Control and Hemoglobinopathy; When A1c May Not Be Reliable*. Diabetes Spectrum, 21(1), 46-49.

Stanten, M. A., Stern, M. P., Miller, W. G., Steffes, M. W., Campbell, S. E. (2010) *Insulin Assay Standardization*. Diabetes Cares, 33 (1), 205-206.

Wendland, A. E., Azevedo, M. J., Gross, J. L., Carmargo, J. L. (2007) Avaliação de diferentes métodos imunotrubidimétricos para determinação da albumina urinária: impacto na classificação dos estágios da nefropatia diabética. Jornal Brasileiro Patologia Médica Laboratorial, 43(6), 393-398.

World Health Organization (2006) *Definition and diagnosis of diabetes Mellitus and intermediate hyperglycemia: Report WHO/IDF consultation*.

World Health Organization (2011) *Use of glycated hemoglobin (HbA1c) in the Diagnostic of Diabetes Mellitus*.

Yilmaz, B., Kadioglu, Y., Capoglu, I. (2012) *Determination of Insulin in Humans with Insulin-Dependents Diabetes Mellitus Patients by HPLC with Diode Array Detection*. Jornal of Chomatographic Science, 50, 586-590.

Zhong, J., Gong. Q., Goud, A., Srinivasamaharaj, S., Rajagopalan, S. (2015) *Recent Advances in Dipeptidyl-Peptidase-4 Inhibitions Therapy: Lessons form the Bench and Clinical Trials*. Journal of Diabetes Research, 1-14.